



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁵ : A23L 1/305, A61K 31/195	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 95/00041 (43) Date de publication internationale: 5 janvier 1995 (05.01.95)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR94/00736 (22) Date de dépôt international: 17 juin 1994 (17.06.94) (30) Données relatives à la priorité: 93/07586 17 juin 1993 (17.06.93) FR 93/14761 3 décembre 1993 (03.12.93) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): UNIVERSITE DE RENNES 1 [FR/FR]; 2, rue du Thabor, F-35000 Rennes (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): MOULINOX, Jacques-Philippe [FR/FR]; 33, rue Louis-Guilloux, F-35000 Rennes (FR). QUEMENER, Véronique [FR/FR]; 4, rue Meslé, F-35700 Rennes (FR). (74) Mandataire: VIDON, Patrice; Cabinet Patrice Vidon, Immeuble Germanium, 80, avenue des Buttes de Coësmes, F-35700 Rennes (FR).		(81) Etats désignés: AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, ES, FI, GB, GE, HU, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LU, LV, MD, MG, MN, MW, NL, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SI, SK, TJ, TT, UA, US, UZ, VN, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i>
(54) Title: FOOD AND/OR PHARMACEUTICAL COMPOSITION HAVING A LOW POLYAMINE CONTENT, AND THERAPEUTICAL USES THEREOF		
(54) Titre: COMPOSITION A USAGE ALIMENTAIRE ET/OU PHARMACEUTIQUE PAUVRE EN POLYAMINES ET APPLICATIONS THERAPEUTIQUES		
(57) Abstract		
An esculent composition consisting of a nutrient mixture with a polyamine content of less than 1600 picomoles/g. The composition is useful as an anticancer agent, as a pain killer, as an immune system stimulant, in particular for stimulating NK cell activity and endogenous interleukin-2 production, or as an appetite suppressant.		
(57) Abrégé		
L'invention concerne une composition pouvant être ingérée par l'homme caractérisée en ce qu'elle est constituée d'un mélange nutritif pauvre en polyamines contenant moins de 1600 picomoles/g de polyamines. Une telle composition est utilisable à titre d'agent anti-cancéreux, d'agent antalgique, d'agent visant à stimuler le système immunitaire, notamment l'activité des cellules NK et la production endogène interleukine 2, ou encore d'agent permettant de réduire l'appétit.		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

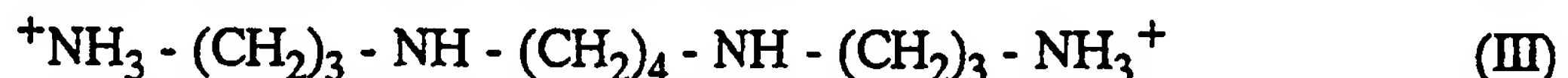
Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	GB	Royaume-Uni	MR	Mauritanie
AU	Australie	GE	Géorgie	MW	Malawi
BB	Barbade	GN	Guinée	NE	Niger
BE	Belgique	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	HU	Hongrie	NO	Norvège
BG	Bulgarie	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	IT	Italie	PL	Pologne
BR	Brésil	JP	Japon	PT	Portugal
BY	Bélarus	KE	Kenya	RO	Roumanie
CA	Canada	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CF	République centrafricaine	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LK	Sri Lanka	SN	Sénégal
CN	Chine	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	LV	Lettonie	TG	Togo
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DE	Allemagne	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
DK	Danemark	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande	MN	Mongolie	UZ	Ouzbékistan
FR	France			VN	Viet Nam
GA	Gabon				

Composition à usage alimentaire et/ou pharmaceutique pauvre en polyamines et applications thérapeutiques.

L'invention concerne à la fois le domaine alimentaire et le domaine pharmaceutique.

5 Les polyamines et tout particulièrement la putrescine (I), la spermidine (II) et la spermine (III) sont présentes dans toutes les cellules.



10 Bien que ces molécules aient été longtemps considérées comme dénuées de tout rôle physiologique et ne représentant qu'une étape terminale du catabolisme tissulaire, de nombreux travaux scientifiques ont montré que les polyamines issues de la décarboxylation de l'ornithine étaient en fait des molécules biologiquement actives et capables d'intervenir à différents niveaux importants de la vie de la
15 cellule.

Ces molécules que l'on trouve non seulement à l'intérieur même des cellules mais également à l'état circulant dans les liquides biologiques de l'organisme, tels que le sang sont issues de trois sources principales :

- la prolifération cellulaire physiologique (croissance et/ou renouvellement
20 des cellules constitutives de l'organisme) et tumorale,
- l'alimentation,
- les bactéries intestinales.

Les polyamines intracellulaires ne proviennent pas simplement d'échanges transmembranaires passifs avec les liquides biologiques de l'organisme mais
25 résultent d'un métabolisme finement régulé et en relation avec le cycle cellulaire. Un accroissement de l'activité de l'enzyme responsable de la voie anabolique intracellulaire principale des polyamines, l'ornithine-décarboxylase (ODC), et donc des concentrations en putrescine, spermidine et spermine est en effet observé en fin de phase G1 et début de phase S, et en début de phase G2 du cycle de
30 réplication cellulaire. L'implication du métabolisme des polyamines dans la

réplication cellulaire et donc dans les processus prolifératifs font de ce métabolisme l'une des cibles privilégiées des drogues antiprolifératives, en même temps que la source de nouveaux signaux circulants susceptibles de révéler l'existence d'un processus néoplasique au sein d'un organisme.

5 Il a été constaté que la croissance tumorale s'accompagne en règle générale d'un accroissement très significatif de l'anabolisme intracellulaire des polyamines qui se retrouvent alors en quantité augmentée dans les liquides biologiques. Bien que le rôle exact des polyamines circulantes en tant que paramètres impliqués dans la régulation (ou la dysrégulation) homéostatique de la prolifération cellulaire ne
10 soit pas élucidé, il a été prouvé que les taux érythrocytaires de polyamines pouvaient être considérés et utilisés comme des marqueurs du niveau hyperplasique tumoral (voir "Biological significance of circulating polyamines in oncology" - Moulinoux, J.-Ph, Quemener, V. et Khan, N.A. - *Cellular and molecular biology* - 37(8), 773-783, 1991). Ces travaux ont par ailleurs montré que les polyamines
15 circulantes, provenant soit des cellules elles-mêmes soit du tractus gastro-intestinal (alimentation, bactéries intestinales) participaient au maintien de l'état prolifératif malin.

On connaît dans l'état de la technique divers inhibiteurs de l'ornithine-décarboxylase et notamment des inhibiteurs sélectifs irréversibles de cette enzyme
20 tels que l' α -difluorométhylornithine (α -DFMO) commercialisée par la société Marion Merrell Dow sous la dénomination EflornithineTM. Toutefois, l'administration isolée d' α -DFMO en l'absence de tout autre traitement à des patients ou à des animaux cancéreux, s'est révélée inefficace vis-à-vis de la progression tumorale maligne, ceci alors même que cet inhibiteur de la synthèse des polyamines, tout en
25 diminuant de manière très significative les taux intracellulaires de putrescine et de spermidine, inhibait totalement la prolifération cellulaire cancéreuse *in vitro*. L'incapacité de l' α -DFMO à réduire *in vivo* la prolifération cellulaire maligne est très probablement en relation avec le fait que, dans l'organisme, les cellules cancéreuses restaurent la quantité intracellulaire de polyamines nécessaire au
30 maintien de leur prolifération en captant les polyamines présentes dans le milieu

extracellulaire, c'est-à-dire dans les différents liquides biologiques dont le sang. Cette hypothèse a été confortée par les travaux de Person et al (*Cancer Research*, 1988, n°48, pp. 4807 à 4811) qui ont montré qu'à la différence de ce que l'on constatait avec des cellules sauvages L1210, des souris inoculées avec des cellules L1210 mutées, rendues incapables de capter les polyamines extracellulaires, répondaient favorablement à un traitement inhibiteur de la biosynthèse de polyamines intracellulaires par l' α -DFMO.

Différents travaux ont par ailleurs mis en évidence que, chez l'animal, l'administration conjointe :

- d'une alimentation dépourvue de polyamines,
- d' α -DFMO,
- d'un inhibiteur de la polyamine-oxydase (PAO) supprimant la rétroconversion oxydative de la spermidine et de la spermine en putrescine, et
- de néomycine et de métronidazole,

entraîne une inhibition quasi-totale de la progression tumorale du carcinome pulmonaire de Lewis 3LL (Seiler N. et al, *Cancer Research*, 1990, n°50, pp. 5077-5083), du glioblastome humain U251 (Moulinoux J-Ph. et al, *Anticancer Research*, 1991, n°11, pp. 175-180), de l'adénocarcinome de la prostate Dunning MAT-LyLu (Moulinoux J-Ph. et al, *Journal of Urology*, 1991, n° 146, pp. 1408,1412) et du neuroblastome humain neuro 2a (Quemener et al, "Polyamines in the gastro-intestinal tract", Dowling R.H., Fölsch I.R. et Löser C Ed., *Kluwer Academic Publishers Boston*, 1992, pp. 375-385).

Il a par ailleurs été également démontré chez l'animal que la déplétion en polyamines pouvait considérablement potentialiser les effets antiprolifératifs des drogues antitumorales conventionnelles (méthotrexate, cyclophosphamide, vindesine) tout en allongeant le temps de survie des animaux et pouvait permettre de réduire les quantités de drogues administrées tout en conservant le même effet antitumoral (Quemener V. et al, "Polyamine deprivation enhances antitumoral efficacy of chemotherapy", *Anticancer Research* n°12, 1992, pp. 1447-1454).

La demande de brevet française n° 93 07586 déposée le 17 juin 1993, dont

la Demanderesse demande à bénéficier de la date conformément aux dispositions de l'article L 612.3 du Code de la Propriété Intellectuelle, propose une composition administrable à l'homme à titre d'aliment, de complément alimentaire et/ou de produit de nutrition thérapeutique, permettant de pallier l'inefficacité des traitements réalisés jusqu'ici chez l'homme par administration isolée d' α -DFMO et permettant d'obtenir l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales, constituée d'un mélange nutritif pauvre en polyamines contenant moins de 50 picomoles/g de putrescine, de spermidine, de spermine et de cadavérine, comprenant, en pourcentage de poids sec par rapport au poids sec total : 10 % à 35 % de lipides, 8 % à 30 % de protéines, 35 % à 80 % de glucides, jusqu'à 10 % d'un mélange constitué de vitamines, de minéraux et d'électrolytes.

De récents travaux ont montré qu'une telle composition pouvait toutefois renfermer des taux de polyamines plus élevés que ceux précédemment revendiqués, et permettre une réelle synergie des effets provoqués, chez l'homme, par la diminution des apports extérieurs de polyamines et par l'inhibition de la synthèse intracellulaire de ces composés.

D'autres travaux effectués chez le rat ou la souris conduisent à penser qu'une telle composition, mise en oeuvre chez l'homme dans le cadre d'un traitement visant à dépléter l'organisme cancéreux en polyamines en réduisant toutes les voies d'apport exogène et endogène de ces substances, permettait d'obtenir également des effets thérapeutiques autres que l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales.

La présente demande concerne donc une composition pouvant être ingérée par l'homme caractérisée en ce qu'elle est constituée d'un mélange nutritif pauvre en polyamines contenant moins d'environ 1600 picomoles/g de polyamines.

Les principales polyamines étant constitués par la putrescine, la spermine, la spermidine et la cadavérine, la composition contient avantageusement moins d'environ 400 picomoles/g de putrescine, moins d'environ 400 picomoles/g de spermidine, moins d'environ 400 picomoles/g de spermine et moins d'environ 400 picomoles/g de cadavérine.

Préférentiellement, ladite composition contient moins d'environ 400, préférentiellement moins d'environ 200, picomoles/g de polyamines.

Avantageusement, cette composition contient moins d'environ 100, préférentiellement moins d'environ 50, picomoles/g de putrescine, moins d'environ 100, préférentiellement moins d'environ 50, picomoles/g de spermidine, moins d'environ 100, préférentiellement moins d'environ 50, picomoles/g de spermine et moins d'environ 100, préférentiellement moins d'environ 50, picomoles/g de cadavérine. Une telle composition apporte, journellement, au moins 17 fois moins de putrescine, 40 fois moins de cadavérine, 70 fois moins de spermidine et 220 fois de spermine que l'alimentation naturelle humaine la plus pauvre qui soit en teneur de polyamines, mais qui réponde néanmoins aux besoins nutritionnels humains.

Selon une variante de l'invention, la composition comprend en outre, en pourcentage de poids sec par rapport au poids sec total : 10 à 35% de lipides, 8 à 30% de protéines, 35 à 80% de glucides, jusqu'à 10% d'un mélange constitué de vitamines, de minéraux et d'électrolytes.

Une telle composition pourra être présentée sous forme sèche à dissoudre extemporanément dans un véhicule neutre convenant à l'administration orale ou encore entérale, ou sous forme liquide prête à l'emploi. Dans tous les cas, la composition est présentée sous forme stérile.

Une telle composition est particulièrement bien adaptée à l'homme et constitue un substitutif alimentaire qui permet de carencer les patients de façon efficace en polyamines. Une telle composition permet en effet d'alimenter un patient de façon satisfaisante tout en induisant une carence en polyamines, d'une part en inhibant la synthèse intracellulaire de polyamines et d'autre part en diminuant l'apport de polyamines exogènes.

Une telle composition permet d'inhiber fortement la synthèse endogène des polyamines et diminue de façon très importante l'apport en ces composés puisque les différents ingrédients qui la constituent en sont quasiment dépourvus. Afin de diminuer également les apports en polyamines par les bactéries intestinales, cette composition pourra être administrée concomitamment à une décontamination du

tractus gastro-intestinal au moyens d'antibiotique(s) et/ou d'antiparasitaire(s), tels que, par exemple, la néomycine et le métronidazole. On pourra d'ailleurs envisager d'inclure de tels antibiotique(s) et/ou antiparasitaire(s) directement dans ladite composition, sans sortir du cadre de l'invention.

5 Les nutriments utilisés dans la composition alimentaire selon l'invention possèdent une bonne valeur nutritionnelle même chez les sujets malades.

La quantité d'eau employée pour réaliser la composition est déterminée pour que la composition soit plus ou moins liquide et puisse être facilement ingérée par le patient.

10 Le pourcentage pondéral du mélange constitué de vitamines, de minéraux et d'électrolytes est choisi de façon à répondre aux proportions, connues de l'homme du métier, devant se trouver dans une alimentation équilibrée.

Préférentiellement, ladite composition contient moins de 100 picomoles/g de putrescine, moins de 100 picomoles/g de spermidine, moins de 100 picomoles/g de spermine, moins de 100 picomoles/g de cadavérine.

15 Une telle composition pourra être administrée conjointement à au moins un inhibiteur de la synthèse intracellulaire des polyamines.

Selon une variante intéressante de l'invention ladite composition est enrichie avec au moins un inhibiteur de la synthèse intracellulaire des polyamines à raison d'au plus 15% en poids par rapport au poids sec total de la composition et, préférentiellement, à raison d'une quantité comprise entre 0,2% et 7% en poids.

20 Les inhibiteurs de l'ODC utilisables sont choisis en particulier parmi les composés suivants :

Antagonistes du phosphate de pyridoxal

- 25 . L-canaline
. N-(5'-phosphopyridoxyl)ornithine

Inhibiteurs compétitifs

- . α -hydrazino-ornithine
. acide DL- α -hydrazino- δ -aminovalérique
30 . α -méthylornithine (α -MO)

. *trans*-3-déhydro-DL-ornithine

. 1,4-diamino-*trans*-2-butène

. 1,4-diaminobutanone

Inhibiteurs diaminés

5 . 1,3-diaminopropane

. 1,3-diamino-2-propanol

. bis(éthyl)spermine

Inhibiteurs suicides et irréversibles

. 2-difluorométhylornithine (DFMO)

10 . monofluorométhylornithine

. 2-monofluorométhyl-déhydro-ornithine

. 2-monofluorométhyl-déhydro-ornithine méthyl ester

. 5-hexyne-1,4-diamine

. *trans*-hex-2-èn-5-yne-1,4-diamine

15 . monofluorométhylputrescine

. difluorométhylputrescine

. α -allénylputrescine

. (2R,5R)-6-heptyne-2,5-diamine.

20 Parmi ces inhibiteurs, les inhibiteurs compétitifs sont particulièrement préférés et notamment l' α -méthylornithine (α -MO).

L' α -méthylornithine montre de nombreux avantages dans le cadre de l'utilisation proposée ici. En effet, l' α -MO présente l'intérêt d'être un composé naturel facilement synthétisable et a une constante d'inhibition élevée.

25 L' α -méthylornithine présente de plus l'avantage d'inhiber la synthèse des polyamines chez *Escherischia coli*, la bactérie la plus commune peuplant naturellement le tractus intestinal, ce qui n'est notamment pas le cas de l' α -DFMO.

30 Ainsi l'emploi d'une composition alimentaire selon l'invention contenant en tant qu'inhibiteur de la synthèse intracellulaire des polyamines, de l' α -méthylornithine est-elle susceptible de réduire l'apport exogène de polyamines par les bactéries intestinales sans pour autant avoir recours à une antibiothérapie

concomitamment à l'administration de cette composition ou, pour le moins, en permettant de diminuer la dose d'antibiotiques administrée.

Enfin, l' α -MO présente l'avantage d'être un simple inhibiteur compétitif de l'ornithine décarboxylase (ce qui va à l'encontre des pistes actuellement explorées par la communauté scientifique internationale) et diminue fortement les risques d'accoutumance de l'organisme par mutation aboutissant à une résistance cellulaire accrue.

La conception originale de l'invention privilégie la recherche d'un effet de synergie entre plusieurs facteurs, à savoir notamment l'inhibition de la synthèse intracellulaire des polyamines et l'apport carencé conjoint en ces composés. Sous cet angle, il apparaît également que le meilleur inhibiteur est l' α -MO.

Selon une variante, la composition selon l'invention est enrichie en vitamines, notamment celles apportées, chez l'être humain sain, par les bactéries intestinales. En effet, l'antibiothérapie qui peut accompagner l'administration de ladite composition peut aussi conduire à diminuer l'apport en certaines vitamines. Dans ce cas, il peut s'avérer nécessaire d'enrichir la composition selon l'invention en ces vitamines afin de ne pas provoquer de carence vitaminique à la suite de l'administration prolongée de ladite composition. Notamment, il pourra s'avérer utile d'enrichir la composition en vitamines ou en dérivés de vitamines. Certains dérivés de la vitamine A (acide rétinoïque) sont en effet des inhibiteurs de l'activité ODC.

Préférentiellement, les glucides de la composition appartiennent au groupe comprenant les polymères de glucose, les maltodextrines, le saccharose, les amidons modifiés, le glucose monohydraté, le sirop de glucose déshydraté, le monostéarate de glycérol et leurs mélanges. De tels glucides sont en effet digestibles même en cas de pathologie digestive ou d'anomalies fonctionnelles secondaires à un traitement anticancéreux (chimiothérapie ou radiothérapie).

Selon une variante de l'invention, les protéines utilisées appartiennent au groupe comprenant les protéines solubles du lait, les protéines de soja, les peptides de sérum, le jaune d'oeuf en poudre, le caséinate de potassium, les peptides non

phosphorylés, les peptides de caséine, le caséinate mixte, l'isolat de soja et leurs mélanges.

Préférentiellement, les lipides appartiennent au groupe comprenant l'huile de beurre, l'huile d'arachide, les triglycérides à chaîne moyenne, l'huile de pépins de raisin, l'huile de soja, l'huile d'onagre et leurs mélanges. Avantageusement, lesdits lipides sont constitués par un mélange d'au moins une huile d'origine animale, d'au moins une huile d'origine végétale et de stéarate de glycérol.

Selon une variante de l'invention ladite composition constitue une ration journalière alimentaire d'un être humain et comprend :

- éventuellement ledit inhibiteur de la synthèse intracellulaire des polyamines à raison de moins de 50g et préférentiellement à raison de 1 à 10 g,
- entre 75 g et 500 g de glucides,
- entre 20 g et 185 g de lipides,
- entre 20 g et 225 g de protéines,
- des vitamines, des minéraux et des électrolytes en quantités suffisantes pour répondre aux besoins nutritionnels journaliers d'un être humain.

Les quantités de vitamines, de minéraux et d'électrolytes utilisés sont connues de l'homme du métier et peuvent être facilement trouvées dans la littérature (voir par exemple, "Apports nutritionnels conseillés" Dupin, Abraham et Giachetti deuxième édition 1992, Ed. TEC et DOC Lavoisier)

Une telle composition permet, à elle seule, de répondre aux besoins nutritionnels journaliers d'un patient tout en permettant de réduire la synthèse intracellulaire et l'apport extérieur en polyamines. Elle constitue alors un aliment à part entière.

Bien sûr, il pourra être envisagé d'administrer une telle composition non pas en une seule prise mais en plusieurs prises espacées au cours de la même journée. Chaque ration sera alors définie pondéralement de façon à constituer un sous-multiple d'une ration journalière alimentaire d'un être humain et comprendra:

- éventuellement ledit inhibiteur de la synthèse intracellulaire des polyamines à raison de moins de 50/X g et préférentiellement à raison de 1/X à

10/X g,

- entre 75/X g et 500/X g de glucides,
- entre 20/X g et 185/X g de lipides,
- entre 20/X g et 225/X g de protéines,

5 - des vitamines, des minéraux et des électrolytes en quantités suffisantes pour répondre partiellement aux besoins nutritionnels journaliers d'un être humain. X étant un entier compris entre 2 et 8 et correspondant au nombre de rations devant être ingérées par le patient pour satisfaire ses besoins nutritionnels journaliers.

10 Le nombre de telles rations pourra être choisi de façon à répondre totalement aux besoins alimentaires journaliers du patient ou bien être choisi de façon à ne couvrir qu'une partie des besoins nutritionnels de celui-ci, le reste de ces besoins étant assurés par une alimentation naturelle pauvre en polyamines (jambon et pâtes ou riz par exemple). Dans ce cas la composition alimentaire sera utilisée

15 en tant que complément alimentaire.

 L'invention a également pour objet un agent à deux composants A et B, le composant A étant constitué par une composition pouvant être ingérée par l'homme constituée d'un mélange nutritif pauvre en polyamines contenant moins de 400 picomoles/g, préférentiellement moins de 100 picomoles/g de putrescine,

20 moins de 400 picomoles/g, préférentiellement moins de 100 picomoles/g de spermidine, moins de 400 picomoles/g, préférentiellement moins de 100 picomoles/g de spermine, et moins de 400 picomoles/g, préférentiellement moins de 100 picomoles/g de cadavérine, et comprenant, en pourcentage de poids sec par rapport au poids sec total : 10 % à 35 % de lipides, 8 % à 30 % de protéines, 35 % à 80

25 % de glucides, jusqu'à 10 % d'un mélange constitué de vitamines, de minéraux et d'électrolytes, et un composé B, constitué par un inhibiteur de synthèse intracellulaire des polyamines, constitué de préférence par l' α -méthylornithine, les composants A et B étant mis en oeuvre comme produits de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou décalée dans le temps pour le traitement du

30 cancer, en particulier du cancer de la prostate.

La composition ou l'agent selon l'invention pourront être utilisés à titre de médicament, d'aliment, de supplément alimentaire ou encore de produit de nutrition thérapeutique.

La composition ou l'agent selon l'invention sont susceptibles de présenter une activité anti-néoplasique chez l'homme. La déplétion en polyamines potentialisant les effets des traitements anticancéreux conventionnels, la composition ou l'agent selon l'invention seront utilisables en association avec d'autres traitements anticancéreux, y compris ceux faisant appel à des inhibiteurs du métabolisme des polyamines.

En particulier, une telle composition ou un tel agent sont susceptibles de se révéler efficaces pour le traitement du cancer de la prostate.

De récents travaux ont par ailleurs permis de mettre en évidence qu'une telle composition utilisée dans le cadre d'un traitement visant à réduire toutes les voies d'apport exogène et endogène en polyamines était susceptible de présenter, chez l'homme, un effet thérapeutique constitué par la stimulation du système immunitaire. Notamment, ces travaux ont prouvé qu'une composition analogue administrée à des murins, concomitamment à l'administration d'un inhibiteur de la synthèse des polyamines (le DFMO) et à un antibiotique (la Néomycine) permettait de stimuler l'activité cytotoxique des cellules "natural killers" (cellules NK) et permettait également de stimuler et même de normaliser la production endogène d'interleukine 2.

D'autres travaux ont également permis de mettre en évidence qu'une telle composition, en particulier lorsqu'elle est administrée concomitamment à un inhibiteur de la synthèse des polyamines, induisait chez l'homme un effet antalgique puissant.

Par ailleurs, d'autres travaux ont également permis de mettre en évidence qu'une telle composition utilisée en complément avec un inhibiteur de la synthèse des polyamines était susceptible, chez l'homme, de réduire l'appétit.

L'invention sera plus facilement comprise grâce aux deux exemples de réalisation de l'invention qui vont suivre.

Exemple 1

On prépare la composition suivante (voir tableau IV).

On disperse dans 150 litres d'eau,

- 786 g de phosphate disodique,
- 5 - 5,080 kg d'huile d'arachide,
- 0,300 kg de stéarate de glycérol,
- 1,280 kg d'huile de beurre,

après agitation, on y incorpore :

- 8,760 kg de concentré de protéine soluble de lait, et ensuite 18,750 kg de
- 10 maltodextrine, 7,000 kg de saccharose.

L'ensemble est refroidi à température ambiante et on ajoute 45 g d'oxyde de magnésium, 13,8 g de carbonate de calcium, 227,5 g de chlorure de magnésium, 6,7 g de sulfate de fer, 40 g de prémix vitaminique et de sels minéraux, 73,6 g de chlorure de choline, 60,0 g d'acide ascorbique.

- 15 On ajuste ensuite le volume de la cuve à 200 litres, par addition d'eau, et le pH est ajusté à 7,10 par addition d'une solution d'hydroxyde de sodium 2N.

Après dégazage, stérilisation, homogénéisation, on introduit le produit dans des boîtes métalliques serties. On ajoute à cette composition, lorsqu'on souhaite une composition complète, 4,0kg d' α -méthylornithine.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

Ingrédients	Quantité (pour 200 litres)
Protéines Concentré de protéines solubles du lait	8,760 kg
Glucides Maltodextrines Saccharose	18,750 Kg 7,000 Kg
Lipides Huile de beurre Huile d'arachide stéarate de glycérol	1,280 Kg 5,080 Kg 0,300 kg
Vitamines Vitamine A Vitamine E Vitamine K1 Vitamine C Vitamine B1 Riboflavine Acide Pantothénique . Niacine Vitamine B6 Acide folique Biotine Vitamine B12 . . Choline Inositol	106,000 mg 2,660 g 10,600 mg 20,000 g 0,340 g 0,400 g 2,660 g 4,000 g 0,540 g 53,400 mg 39,000 mg 0,540 mg 54,000 g 134,000 g
Minéraux et Electrolytes Sodium Potassium Calcium Phosphore Magnésium Fer Zinc Cuivre Manganèse Chlorures Iode Sélénium Chrome Molybdène	100,000 g 200,000 g 100,000 g 134,000 g 56,000 g 1,340 g 1,600 g 0,340 g 0,540 g 90,000 g 20,000 mg 9,400 mg 16,600 mg 20,000 mg
Inhibiteur de l'ODC α-méthylornithine	4000,000 g

TABLEAU IV

La composition centésimale obtenue est la suivante :

Glucides : 12,500 g dont 9,000 g de maltodextrines et 3,500 g de saccharose ;

Lipides : 3,330 g dont 0,640 g d'huile de beurre, 2,540 g d'huile d'arachide et 0,150 g de stéarate de glycérol ;

5 Protéines : 4,000 g apportées par un concentré de protéines solubles de lait.

Vitamines, minéraux et électrolytes : 0,600 g ;

α -méthylornithine : 3,000 g ;

eau : QSP 100 ml.

10 Le pourcentage pondéral de vitamines, de minéraux et d'électrolytes utilisé est choisi de façon telle que la consommation journalière de quatre boîtes permette de répondre aux besoins nutritionnels conseillés par Dupin, Abraham et Giachetti ("Apports nutritionnels conseillés pour la population française" deuxième édition 1992, Editions TEC et DOC Lavoisier).

Exemple 2

15 Une préparation présentant sensiblement les mêmes ingrédients que ceux indiqués dans le tableau IV est préparée selon la même procédé que celui détaillé dans l'exemple 1. Toutefois, la source de protéines est remplacée par un mélange d'isolat de soja et de poudre de jaune d'oeufs. L'huile d'arachide est quant à elle substituée par un mélange d'huile de germes de maïs et d'huile de soja.

20 La composition centésimale obtenue par boîte de 100 ml est la suivante :

Glucides : 12,500 g dont 9,000 g de maltodextrines et 3,500 g de saccharose ;

Lipides : 3,330 g dont 0,640 g d'huile de beurre, 0,840 g d'huile de germes de maïs, 1,700 g d'huile de soja et 0,150 g ;

25 Protéines : 4,000 g dont 3,380 g d'isolat de soja et 0,620 g de poudre de jaune d'oeufs ;

Vitamines, minéraux et électrolytes : 0,600g

α -méthylornithine : 3,000 g

eau : QSP 100 ml.

30 De nombreux tests ont été menés chez le rat et la souris à l'aide de compositions analogues à celles décrites aux exemples 1 et 2 adaptées aux besoins

nutritionnels des murins.

Ces différents tests ont permis de mettre en évidence différents effets thérapeutiques induits par un traitement visant à carencer l'organisme en polyamines.

5 Effet sur l'inhibition de la croissance tumorale.

10 Des souris porteuses du carcinome pulmonaire de Lewis 3LL sont traitées par une composition alimentaire de synthèse pauvre en polyamines (AP), conforme à la présente invention dont la formule répond aux besoins nutritionnels humains, de l'α MO à 0,5% et des antibiotiques (ATB) (Néomycine : 0,2%, Flagyl 0,0034%).
15 Les témoins reçoivent un aliment identique à celui des traités mais dans lequel des quantités de polyamines 200 à 1800 fois supérieurs ont été rajoutées afin d'aboutir à une consommation en polyamines équivalente à celle obtenue en cas d'alimentation standard. Avec l'aliment déplété, la consommation journalière en putrescine est équivalente à celle qui serait obtenue chez l'homme avec un aliment de synthèse contenant 50 picomoles de putrescine par gramme.

Après 15 jours de traitement, les animaux ont été sacrifiés et les tailles de leurs tumeurs ont été mesurées. Les résultats sont donnés dans le tableau V qui montre une diminution très importante de la taille des tumeurs dans le cas où l'alimentation a été administrée avec des antibiotiques et/ou de l'α MO.

20

	Aliment Pauvre		Aliment Pauvre + ATB	
	volume tumoral	% d'inhibition	Volume tumoral	% d'inhibition
Témoins (AP + polyamines)	2.13 ± 0,66	0		
25 AP	2.10 ± 0,46	0	0.82 ± 0,46**	61%
30 AP + α MO	0.63 ± 0,2**	70%	0.49 ± 0,33	77%

TABLEAU V
Effet sur la stimulation de l'activité des cellules NK

Des souris porteuses du carcinome pulmonaire de Lewis 3LL sont traitées

par un aliment déplété en polyamines (*), du DFMO à 3% dans l'eau de boisson et des antibiotiques (Néomycine:0,2%, Flagyl 0,0034% dans l'eau de boisson). Cet aliment contient 30 à 50 fois moins de polyamines que l'aliment standard reçu par les témoins : la consommation journalière en putrescine est équivalente à celle qui serait obtenue chez l'homme avec un aliment de synthèse contenant 380 pmoles de putrescine par g. L'aliment standard ainsi que l'aliment déplété répondent aux besoins nutritionnels murins.

Les résultats (moyenne \pm déviation standard) sont obtenus sur n=4 animaux par lot expérimental.

Les résultats (volume tumoral, taux tissulaires de putrescine et activité des cellules NK) après 15 jours de traitement sont donnés dans le tableau VI. Ce tableau montre une forte stimulation de l'activité des cellules NK par le traitement et l'administration conjointe d'antibiotiques (Néomycine, Flagyl) et de DFMO à 3%.

	Volume tumoral (cm ³)	Taux tissulaires de putrescine			Activité NK (% de lyse)
		Tumeur	Foie (nmoles/g)	Rein	
Témoins (Aliment standard)	5,2 \pm 3,1	25,4 \pm 20	24,9 \pm 11	14,2 \pm 1,5	2,6 \pm 2,3
Aliment déplété + DFMO3% + ATB	0,4 \pm 0,7**	11,6 \pm 5	5,9 \pm 0,2**	5,9 \pm 1,4**	13,4 \pm 2,1**
** différence significative (p < 0,05)					

TABLEAU IV

Des souris porteuses du carcinome pulmonaire de Lewis 3LL sont traitées pendant 7 jours par un aliment déplété en polyamines (*), du DFMO à 3% dans l'eau de boisson et des antibiotiques (néomycine : 0,2%, Flagyl 0,0034% dans l'eau de boisson). Cet aliment contient 20 à 100 fois moins de polyamines que l'aliment standard reçu par les témoins : la consommation journalière en putrescine est

équivalente à celle qui serait obtenue chez l'homme avec un aliment de synthèse contenant 175 pmoles de putrescine par g.

Les rats porteurs du carcinome prostatique Mat Lylu sont traités pendant 14 jours par un aliment déplété en polyamines (**), du DFMO à 3% dans l'eau de boisson et des antibiotiques (Néomycine : 0,2%; Flagyl 0,0034% dans l'eau de boisson). cet aliment contient 30 à 50 fois moins de polyamines que l'aliment standard reçu par les témoins : la consommation journalière en putrescine est équivalente à celle qui serait obtenue chez l'homme avec un aliment de synthèse contenant 380 pmoles de putrescine par g.

L'aliment standard ainsi que l'aliment déplété répondent aux besoins nutritionnels murins.

	Volume tumoral (cm ³)	IL2 (mUnités BRMT/ml)
<i>Souris</i>		
Saines	0	213 ± 8
Lewis		
Témoins	2,7 ± 1,4	28 ± 16 ^a
Aliment déplété* + DFMO3% + ATB	1,69 ± 1,32 ^b	160 ± 65 ^b
<i>Rats</i>		
Sains	0	89 ± 4
Mat Lylu		
Témoins	71,1 ± 4,1	61 ± 1 ^a
Aliment déplété** + DFMO3% + ATB	20,8 ± 6,7 ^b	80 ± 17
^a : significativement différent des sains	^b : des Témoins (p < 0,05)	

TABLEAU VII

Les résultats sont donnés dans le Tableau VII. Ce tableau montre une très nette stimulation de la production endogène d'interleukine 2 chez les souris porteuses du carcinome pulmonaire de Lewis 3LL et une quasi normalisation de la production endogène d'interleukine 2 chez les rats porteurs du carcinome

prostatique Mat Lylu, lorsque les animaux sont traités avec l'aliment déplété en polyamines avec administration conjointe d'antibiotiques (Néomycine et Flagyl) et de DFMO 3%.

Effet antalgique

Le test du "tail flick" (sensibilité à un stimulus algique produit par un faisceau lumineux) a été effectué à l'intensité 7 chez des rats mâles de souche Wistar pesant en moyenne 300 g, nourris *per os ad libitum* soit avec (1) un aliment solide standard, soit avec (2) un aliment solide contenant 30 à 50 fois moins de polyamines que l'aliment standard, soit avec (3) un aliment liquide contenant 200 à 1800 fois moins de polyamines que l'aliment solide standard. Les aliments (1) et (2) répondent aux besoins nutritionnels journaliers des murins, l'aliment (3) aux besoins nutritionnels journaliers humains(4). Qu'il s'agisse d'alimentation solide ou liquide, les animaux reçoivent journallement *per os* la même quantité d' α -DFMO ($2 \text{ g.Kg}^{-1} \cdot 5^{-1}$) contenue soit dans l'eau de boisson (en cas d'alimentation solide), soit dans l'aliment liquide lui-même.

Les résultats après 7 jours de traitement traduisant l'évolution de la résistance à la douleur sont donnés dans le Tableau VIII.

Traitement	Test du tail-flick (secondes)
Aliment solide standard ⁽¹⁾	11,25 \pm 2,32
Aliment solide pauvre en polyamines ⁽²⁾	11,80 \pm 1,92
Aliment solide pauvre en polyamines ⁽²⁾ + α -DFMO ⁽⁴⁾	11,57 \pm 2,31
Aliment liquide pauvre en polyamines ⁽³⁾	18,08 \pm 2,69 *
Aliment liquide pauvre en polyamines ⁽³⁾ + α -DFMO ⁽⁴⁾	18,58 \pm 2,17 *

(*) $p < 5\%$ par rapport aux groupes recevant une alimentation solide.

TABLEAU VIII

Ce tableau montre une nette augmentation du seuil de résistance à la douleur chez les animaux nourris avec un aliment pauvre en polyamines, surtout lorsque celui-ci est accompagné de l'administration d' α -DFMO.

Le test de résistance à la pression (application d'une masselotte de 140 g

sur les coussinets plantaires des animaux) a également été réalisé chez des rats mâles de souche Wistar pesant en moyenne 300 g, nourris *per os ad libitum* soit avec (1) un aliment solide standard, soit avec (2) un aliment solide contenant 30 à 50 fois moins de polyamines que l'aliment standard, soit avec (3) un aliment liquide contenant 200 à 1800 fois moins de polyamines que l'aliment solide standard. Les aliments (1) et (2) répondent aux besoins nutritionnels journaliers des murins, l'aliment (3) aux besoins nutritionnels journaliers humains. (4) Qu'il s'agisse d'alimentation solide ou liquide, les animaux reçoivent journellement *per os* la même quantité d' α -DFMO ($2\text{g.Kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$) contenue soit dans l'eau de boisson (en cas d'alimentation solide), soit dans l'aliment liquide lui-même.

Les résultats après 7 jours de traitement traduisant l'évolution de la résistance à la douleur sont donnés dans le tableau IX.

Traitement	Résistance à la pression (Newtons)
Aliment solide standard ⁽¹⁾	0,12 \pm 0,01
Aliment solide pauvre en polyamines ⁽²⁾	0,10 \pm 0,01 *
Aliment solide pauvre en polyamines ⁽²⁾ + α -DFMO ⁽⁴⁾	0,33 \pm 0,08 *
Aliment liquide pauvre en polyamines ⁽³⁾	0,21 \pm 0,01 *
Aliment liquide pauvre en polyamines ⁽³⁾ + α -DFMO ⁽⁴⁾	0,24 \pm 0,01 *

(*) p < 5% par rapport aux groupes recevant une alimentation solide

TABLEAU IX

Ce tableau montre également une augmentation sensible de la résistance à la douleur chez les animaux nourris avec une alimentation pauvre en polyamines, particulièrement lorsque celle-ci est associée à l'administration de DFMO.

Effet sur l'évolution du poids corporel et la consommation alimentaire

Cinq lots de rats ont été alimentés avec une composition alimentaire pauvre en polyamines et traités avec du DFMO pendant 20 jours. Leur consommation alimentaire et l'évolution de leur poids ont été comparés avec ceux de cinq lots de rats ayant reçu la même alimentation mais dans laquelle des quantités de polyamines ont été rajoutées afin d'aboutir à une consommation en polyamines

équivalente à celle obtenue en cas d'alimentation standard.

La consommation alimentaire journalière moyenne des lots traités avec la composition pauvre en polyamine et le DFMO a été de $19,48 \pm 5,70$ g d'aliment et de $20,52 \pm 9,43$ ml de boisson contre respectivement $28,53 \pm 3,46$ g d'aliments et de $32,72 \pm 5,51$ ml de boisson chez les lots non-traités.

Par ailleurs, les rats traités ont gardé un poids d'environ 350 g en moyenne tout au long du traitement alors que les rats non traités ont vu leur poids passer en moyenne d'environ 350 g à plus de 400 g.

Les deux exemples de réalisation de la composition décrits ci-dessus n'ont pas pour objet de réduire la portée de l'invention. En particulier, il pourra être envisagé d'employer un autre inhibiteur de la synthèse intracellulaire des polyamines que l' α -méthylornithine ou l' α -DFMO et d'incorporer cet inhibiteur dans des proportions pondérales plus importantes que celle mentionnée dans ces exemples. Il pourra également être envisagé d'utiliser d'autres sources de glucides, de lipides ou de protéines que celles mentionnées sans sortir du cadre de l'invention.

REVENDICATIONS

1. Composition pouvant être ingérée par l'homme caractérisée en ce qu'elle est constituée d'un mélange nutritif pauvre en polyamines contenant moins d'environ 1600 picomoles/g de polyamines.

5 2. Composition selon la revendication 1 caractérisée en ce qu'elle contient moins d'environ 400 picomoles/g de putrescine, moins d'environ 400 picomoles/g de spermidine, moins d'environ 400 picomoles/g de spermine et moins d'environ 400 picomoles/g de cadavérine.

10 3. Composition selon la revendication 1 ou 2 caractérisée en ce qu'elle contient moins d'environ 400, préférentiellement moins d'environ 200, picomoles/g de polyamines.

15 4. Composition selon la revendication 3 caractérisée en ce qu'elle contient moins d'environ 100, préférentiellement moins d'environ 50, picomoles/g de putrescine, moins d'environ 100, préférentiellement moins d'environ 50, picomoles/g de spermidine, moins d'environ 100, préférentiellement moins d'environ 50, picomoles/g de spermine et moins d'environ 100, préférentiellement moins d'environ 50, picomoles/g de cadavérine.

20 5. Composition selon l'une des revendications 1 à 4 caractérisée en ce qu'elle contient, en pourcentage de poids sec par rapport au poids sec total : 10 % à 35 % de lipides, 8 % à 30 % de protéines, 35 % à 80 % de glucides, jusqu'à 10 % d'un mélange constitué de vitamines, de minéraux et d'électrolytes.

25 6. Composition selon l'une des revendications 1 à 5 caractérisée en ce qu'elle est enrichie avec au moins un inhibiteur de la synthèse intracellulaire des polyamines à raison d'au plus 15 % en poids par rapport au poids sec total de la composition.

7. Composition selon la revendication 6 caractérisée en ce qu'elle est enrichie avec ledit inhibiteur à raison de 0,2 % à 7 % en poids par rapport au poids sec total de la composition.

30 8. Composition selon la revendication 6 ou 7 caractérisée en ce que ledit inhibiteur est un inhibiteur compétitif de l'ornithine décarboxylase.

9. Composition selon la revendication 8 caractérisée en ce que ledit inhibiteur compétitif est l' α -méthylornithine.

10. Composition selon l'une des revendications 1 à 9 caractérisée en ce qu'elle contient au moins un antibiotique.

5 11. Composition selon l'une des revendications 1 à 10 caractérisée en ce qu'elle est enrichie en vitamines.

10 12. Composition selon l'une des revendications 1 à 11 caractérisée en ce que lesdits glucides appartiennent au groupe comprenant les polymères de glucose, les maltodextrines, le saccharose, les amidons modifiés, le glucose monohydraté, le sirop de glucose déshydraté, le monostéarate de glycérol et leurs mélanges.

15 13. Composition selon l'une des revendications 1 à 12 caractérisée en ce que lesdites protéines appartiennent au groupe comprenant les protéines solubles du lait, les protéines de soja, les peptides de sérum, le jaune d'oeuf en poudre, le caséinate de potassium, les peptides non phosphorylés, les peptides de caséine, le caséinate mixte, l'isolat de soja et leurs mélanges.

20 14. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 13 caractérisée en ce que lesdits lipides appartiennent au groupe comprenant l'huile de beurre, l'huile d'arachide, les triglycérides à chaîne moyenne, l'huile de pépins de raisin, l'huile de soja, l'huile d'onagre et leurs mélanges.

25 15. Composition selon l'une des revendications 1 à 14 caractérisée en ce que lesdits lipides sont constitués par un mélange d'au moins une huile d'origine animale, d'au moins une huile d'origine végétale et de stéarate de glycérol.

30 16. Composition selon l'une des revendications 1 et 10 à 15 caractérisée en ce qu'elle constitue la ration journalière alimentaire d'un être humain et en ce qu'elle comprend :

- entre 75 g et 500 g de glucides
- entre 20 g et 185 g de lipides
- entre 20 g et 225 g de protéines
- des vitamines, des minéraux et des électrolytes en quantités suffisantes pour répondre aux besoins nutritionnels journaliers d'un

être humain.

17. Composition selon l'une des revendications 1 à 16 caractérisée en ce qu'elle constitue la ration journalière alimentaire d'un être humain et en ce qu'elle comprend :

- 5 - moins de 50 g et, préférentiellement, entre 1 à 10 g dudit inhibiteur de la synthèse intracellulaire des polyamines,
- entre 75 g et 500 g de glucides,
- entre 20 g et 185 g de lipides,
- entre 20 g et 225 g de protéines,
- 10 - des vitamines, des minéraux et des électrolytes en quantités suffisantes pour répondre aux besoins nutritionnels journaliers d'un être humain.

18. Composition selon l'une des revendications 1 et 10 à 15 caractérisée en ce qu'elle est un sous-multiple d'une ration journalière alimentaire d'un être humain et en ce qu'elle comprend :

- 15 - entre 75/X g et 500/X g de glucides,
- entre 20/X g et 185/X g de lipides,
- entre 20/X g et 225/X g de protéines,
- des vitamines, des minéraux et des électrolytes en quantités suffisantes pour répondre partiellement aux besoins nutritionnels journaliers d'un être humain,
- 20 et

X étant un entier compris entre 2 et 8 et correspondant au nombre de rations devant être ingérées par le patient pour satisfaire ses besoins nutritionnels journaliers.

19. Composition selon l'une des revendications 1 à 18 caractérisée en ce qu'elle est un sous-multiple d'une ration journalière alimentaire d'un être humain et en ce qu'elle comprend :

- 25 - moins de 50/X g et, préférentiellement, entre 1/X et 10/X g dudit inhibiteur de la synthèse intracellulaire des polyamines,
- entre 75/X g et 500/X g de glucides,
- 30 - entre 20/X g et 185/X g de lipides,

- entre 20/X g et 225/X g de protéines,

- des vitamines, des minéraux et des électrolytes en quantités suffisantes pour répondre partiellement aux besoins nutritionnels journaliers d'un être humain, et

5 X étant un entier compris entre 2 et 8 et correspondant au nombre de rations devant être ingérées par le patient pour satisfaire ses besoins nutritionnels journaliers.

10 20. Composition selon l'une des revendications 1 à 19 caractérisée en ce qu'elle se présente sous une forme sèche à dissoudre extemporanément dans un véhicule neutre.

21. Composition selon l'une des revendications 1 à 19 caractérisée en ce qu'elle inclut un véhicule neutre la rendant prête à l'emploi.

15 22. Agent à deux composants A et B, le composant A étant constitué par une composition pouvant être ingérée par l'homme selon l'une des revendications 1, 10 à 16, 18, 20 ou 21 et le composé B étant constitué par un inhibiteur de synthèse intracellulaire des polyamines, les composants A et B étant mis en oeuvre comme produits de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou décalée dans le temps.

20 23. Agent selon la revendication 22 caractérisé en ce que ledit inhibiteur est de l' α -méthylornithine.

24. Composition ou agent selon l'une quelconque des revendications 1 à 23 pour une utilisation appartenant au groupe comprenant les aliments, suppléments alimentaires et produits de nutrition.

25 25. Composition ou agent selon l'une quelconque des revendications 1 à 23 utilisable comme médicament.

26. Composition ou agent selon l'une des revendications 24 ou 25 utilisable comme produit de nutrition thérapeutique.

27. Composition ou agent selon l'une quelconque des revendications 24 à 26 utilisable comme agent anti-cancéreux.

30 28. Composition ou agent selon la revendication 27 utilisable pour le

traitement du cancer de la prostate.

29. Composition ou agent selon l'une des revendications 24 à 27 utilisable comme agent visant à stimuler le système immunitaire.

5 30. Composition ou agent selon la revendication 29 utilisable comme agent visant à stimuler l'activité des cellules NK.

31. Composition ou agent selon la revendication 29 ou 30 utilisable comme agent visant à stimuler la production endogène d'interleukine 2.

32. Composition ou agent selon l'une des revendications 24 à 27 utilisable comme agent antalgique.

10 33. Composition ou agent selon l'une des revendications 24 à 27 utilisable comme agent visant à réduire l'appétit.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 5 A23L1/305 A61K31/195

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 5 A23L A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US,A,4 112 123 (W.L.ROBERTS) 5 September 1978 see claims 115 23-25	1-5, 11-33
Y	see column 1, line 15 - line 40; tables see column 3, line 45 - line 68 ---	1-33
Y	US,A,4 207 315 (J.J.VOORHEES ET AL.) 10 June 1980 see claims 1-11; examples 3-8 see column 6, line 20 - line 41 see column 6, line 58 - column 7, line 5 see column 1, line 20 - line 25 see column 1, line 64 - column 2, line 10 --- -/--	1-33

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 November 1994

Date of mailing of the international search report

07.12.94

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Van Moer, A

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US,A,4 201 788 (J.J.VOORHEES ET AL.) 6 May 1980 see examples 5,6,8 see column 2, line 58 - line 61 see column 3, line 8-21 see column 3, line 54 - line 69 see column 3, line 62 - line 64 see column 6, line 42 - line 49 see column 6, line 69 - column 7, line 19 ---	1-33
A	US,A,4 859 452 (J.AJANI ET AL.) 22 August 1989 see the whole document ---	1-33
A	EP,A,0 116 693 (MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION) 29 August 1984 see the whole document ---	1-33
A	EP,A,0 162 413 (MERRELL DOW) 27 November 1985 see the whole document ---	1-33
A	EP,A,0 248 217 (MERRELL DOW) 9 December 1987 see the whole document ---	1-33
A	CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY, vol.37, no.8, 1991, UK pages 773 - 783 J.P.MOULINOX ET AL. 'Biological significance of circulating polyamines in oncology' cited in the application see the whole document ---	1-33
A	ANTICANCER RESEARCH, vol.11, no.1, February 1991 pages 175 - 180 J.P.MOULINOX ET AL. 'Inhibition of the growth of U-251 human glioblastoma in nude mice by polyamine deprivation' cited in the application see the whole document ---	1-33
A	ANTICANCER RESEARCH, vol.12, 1992 pages 1447 - 1454 V.QUEMENER ET AL. 'Polyamine dep'ri- vation enhances antitumoral efficacy of chemotherapy' cited in the application see the whole document ---	1-33

-/--

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>CANCER RESAERCH, vol.50, August 1990 pages 5077 - 5083 N.SEILER ET AL. 'Endogenous and exogenous polyamines in support of tumor growth' cited in the application see the whole document -----</p>	1-33

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-4112123	05-09-78	CA-A- 1088801	04-11-80
US-A-4207315	10-06-80	US-A- 4201788	06-05-80
US-A-4201788	06-05-80	US-A- 4207315	10-06-80
US-A-4859452	22-08-89	US-A- 5162373	10-11-92
EP-A-0116693	29-08-84	JP-A- 59098015 US-A- 4559362	06-06-84 17-12-85
EP-A-0162413	27-11-85	AU-B- 567613 AU-A- 4249885 JP-A- 60255721	26-11-87 21-11-85 17-12-85
EP-A-0248217	09-12-87	CA-A- 1318586 DE-A- 3786705 JP-A- 62263127 US-A- 5002879	01-06-93 02-09-93 16-11-87 26-03-91

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 5 A23L1/305 A61K31/195

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 5 A23L A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US,A,4 112 123 (W.L.ROBERTS) 5 Septembre 1978	1-5, 11-33
Y	voir revendications 115 23-25 voir colonne 1, ligne 15 - ligne 40; tableaux voir colonne 3, ligne 45 - ligne 68 ---	1-33
Y	US,A,4 207 315 (J.J.VOORHEES ET AL.) 10 Juin 1980 voir revendications 1-11; exemples 3-8 voir colonne 6, ligne 20 - ligne 41 voir colonne 6, ligne 58 - colonne 7, ligne 5 voir colonne 1, ligne 20 - ligne 25 voir colonne 1, ligne 64 - colonne 2, ligne 10 --- -/-	1-33

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

17 Novembre 1994

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

07.12.94

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Van Moer, A

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>US,A,4 201 788 (J.J.VOORHEES ET AL.) 6 Mai 1980 voir exemples 5,6,8 voir colonne 2, ligne 58 - ligne 61 voir colonne 3, ligne 8-21 voir colonne 3, ligne 54 - ligne 69 voir colonne 3, ligne 62 - ligne 64 voir colonne 6, ligne 42 - ligne 49 voir colonne 6, ligne 69 - colonne 7, ligne 19</p> <p>---</p>	1-33
A	<p>US,A,4 859 452 (J.AJANI ET AL.) 22 Août 1989 voir le document en entier</p> <p>---</p>	1-33
A	<p>EP,A,0 116 693 (MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION) 29 Août 1984 voir le document en entier</p> <p>---</p>	1-33
A	<p>EP,A,0 162 413 (MERRELL DOW) 27 Novembre 1985 voir le document en entier</p> <p>---</p>	1-33
A	<p>EP,A,0 248 217 (MERRELL DOW) 9 Décembre 1987 voir le document en entier</p> <p>---</p>	1-33
A	<p>CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY, vol.37, no.8, 1991, UK pages 773 - 783 J.P.MOULINOX ET AL. 'Biological significance of circulating polyamines in oncology' cité dans la demande voir le document en entier</p> <p>---</p>	1-33
A	<p>ANTICANCER RESEARCH, vol.11, no.1, Février 1991 pages 175 - 180 J.P.MOULINOX ET AL. 'Inhibition of the growth of U-251 human glioblastoma in nude mice by polyamine deprivation' cité dans la demande voir le document en entier</p> <p>---</p>	1-33
A	<p>ANTICANCER RESEARCH, vol.12, 1992 pages 1447 - 1454 V.QUEMENER ET AL. 'Polyamine dep'rivation enhances antitumoral efficacy of chemotherapy' cité dans la demande voir le document en entier</p> <p>---</p>	1-33
	<p>---</p> <p>-/--</p>	

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>CANCER RESAERCH, vol.50, Août 1990 pages 5077 - 5083 N.SEILER ET AL. 'Endogenous and exogenous polyamines in support of tumor growth' cité dans la demande voir le document en entier -----</p>	1-33

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US-A-4112123	05-09-78	CA-A- 1088801	04-11-80
US-A-4207315	10-06-80	US-A- 4201788	06-05-80
US-A-4201788	06-05-80	US-A- 4207315	10-06-80
US-A-4859452	22-08-89	US-A- 5162373	10-11-92
EP-A-0116693	29-08-84	JP-A- 59098015	06-06-84
		US-A- 4559362	17-12-85
EP-A-0162413	27-11-85	AU-B- 567613	26-11-87
		AU-A- 4249885	21-11-85
		JP-A- 60255721	17-12-85
EP-A-0248217	09-12-87	CA-A- 1318586	01-06-93
		DE-A- 3786705	02-09-93
		JP-A- 62263127	16-11-87
		US-A- 5002879	26-03-91